

ENZYMAKTIVITÄTSMUSTER
IM MUSCULUS SEMITENDINOSUS BEI KATZEN NACH
DIAPHYSÄRER VERLÄNGERUNGSOSTEOTOMIE

VON

Hans Joachim Dambeck

aus

Weiden

1980

1000 07 77

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Physiologische Chemie Lehrstuhl II

der Universität Erlangen-Nürnberg

Vorstand: Prof. Dr. med. Karl Brand

ENZYMAKTIVITÄTSMUSTER IM MUSCULUS SEMITENDINOSUS BEI KATZEN NACH DIAPHYSÄRER VERLÄNGERUNGSOSTEOTOMIE

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Hans Joachim Dambeck

aus

Weiden

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. med. W. Kersten

Referent: Prof. Dr. med. K. Brand

Tag der mündlichen Prüfung: 14.07.1980

gewidmet

meinen Eltern und Schwiegereltern

sowie

meiner Frau Graciella

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGEN	I
1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2. MATERIALIEN UND METHODEN	4
2.1. Versuchstiere	4
2.2. Materialien	5
2.3. Geräte	6
2.4. Methoden	7
2.4.1. Operationstechnik	7
2.4.2. Präparation des Muskelhomogenats	8
2.4.3. Messung der Enzymaktivitäten	10
2.4.3.1. Messung der Enolase	11
2.4.3.2. Messung der Triosephosphat-Isomerase	12
2.4.3.3. Messung der Lactat-Dehydrogenase	13
2.4.3.4. Messung der Creatin-Kinase	14
2.4.3.5. Messung des DNA-Gehalts	15
3. ERGEBNISSE	
3.1. Erreichte Extensionsstrecken, Dauer der Verlängerung und Frischgewichte der ent- nommenen Muskelstücke	18
3.2. Vergleich der Enzymaktivitäten im M. semitendinosus der rechten und linken Extremität ohne Behandlung	19
3.3. Vergleich der Aktivitätsmuster von Enzymen im M. semitendinosus der rechten und linken Extremität ohne Behandlung	21

3.4.	Vergleich des DNA-Gehalts im M. semitendinosus der rechten und linken Extremität ohne Behandlung	21
3.5.	Vergleich der Enzymaktivitäten im M. semitendinosus der unbehandelten und gestreckten Extremität	23
3.5.1.	Enolase	23
3.5.2.	Triosephosphat-Isomerase	25
3.5.3.	Lactat-Dehydrogenase	26
3.5.4.	Creatin-Kinase	27
3.6.	Vergleich der Aktivitätsmuster im M. semitendinosus der unbehandelten und gestreckten Extremität	28
3.7.	Vergleich des DNA-Gehalts im M. semitendinosus der unbehandelten und gestreckten Extremität	32
3.8.	Vergleich der Enzymaktivitäten von Enolase, Triosephosphat-Isomerase, Lactat-Dehydrogenase und Creatin-Kinase im M. semitendinosus der unbehandelten und gestreckten Extremität, bezogen auf den DNA-Gehalt	33
3.9.	Vergleich der prozentualen Abweichungen der Enzymaktivitäten und des DNA-Gehalts zwischen unbehandelter und gestreckter Extremität	35
4.	DISKUSSION	37
5.	ZUSAMMENFASSUNG	46
	LITERATURVERZEICHNIS	48

ABKÜRZUNGEN

C	= DNA-Konzentration	$\left[\text{mg DNA/g Frischgewicht} \right]$
d	= Schichtdicke	
$\bar{C}$	= Extinktionskoeffizient	$\left[\text{cm}^2/\text{Mol} \right]$
E	= Extinktion	
EC	= Enzymes Commission, Klassifizierungsnummer	
F_u	= Verdünnungsfaktor der Überstände aus den Zentrifugationen des Rohhomogenats	
g	= Erdbeschleunigung	
i.E.	= Internationale Einheit	
i.m.	= intramuskulär	
i.v.	= intravenös	
λ	= Wellenlänge	
Mg	= Muskelgewicht	
OP Nr.	= Operationsnummer	
St	= Standard	
U	= Unit, Enzymaktivitätseinheit	$\mu \text{ Mol/min}$
Upm	= Umdrehungen pro Minute	
V_{max}	= Maximale Enzymaktivität bei Substratsättigung	
V_P	= Probenvolumen	
V_{GH}	= Volumen des Gewebehydrolysats	
V_R	= Volumen der Suspension der Rückstände des Rohhomogenats in 5%iger Trichloressigsäure	
V_{St}	= Volumen des Standards	
V_u	= Volumen der Überstände nach Zentrifugation des Rohhomogenats	
V_T	= Gesamtvolumen eines photometrischen Ansatzes	

Enzyme, Chemikalien

ADP	Adenosin-5'-diphosphat, Dinatriumsalz
CK	Creatin-Kinase, aktiviert, Testkombination, (EC 2.7.3.2)
DAP	Dihydroxyacetonphosphat
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EDTA	Äthylendiamintetraacetat
EN	Enolase (EC 4.2.1.11)
GAP	Glycerinaldehyd-3-phosphat
GDH	Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.8)
LDH	Lactat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.27)
NADH	β -Nicotinamid-adenin-dinucleotid, reduzierte Form
NaOH	Natriumhydroxid
PK	Pyruvat-Kinase (EC 2.7.1.40)
TIM	Triosephosphat-Isomerase (EC 5.3.1.1)
TCA	Trichloressigsäure
TRA-HCl	Triäthanolamin-Hydrochlorid

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Die operative Korrektur der Beinlängendifferenz ist ein großer orthopädischer Eingriff, der kritische Indikationsstellung, sichere Beherrschung der Operationstechnik und sorgfältige Überwachung der Konsolidierungsphase verlangt. Eine angeborene oder erworbene Beinverkürzung von mehr als 3 - 4 cm stellt eine starke Körperbehinderung dar, die zu einer erheblichen Störung der Gangfunktion führt. Außerdem ist diese ästhetische Anomalie mit schwerer psychischer Belastung der Patienten verbunden. Der Beinlängenausgleich mit technischen Hilfsmitteln ist vor allem deshalb unbefriedigend, weil er den kosmetischen Ansprüchen nicht gerecht wird und weil er bei Verkürzungen des Oberschenkels die Kniegelenke in unterschiedlicher Höhe beläßt und somit eine wichtige Funktionsstörung nicht beseitigt (18).

Deshalb wurde schon seit langer Zeit ein operativer Beinlängenausgleich angestrebt, der eine anatomische Normalisierung herbeiführt (2). Die Verlängerungsosteotomie hat sich bei angeborenen und erworbenen Gliedmaßenverkürzungen bewährt (18,7).

Feingewebliche Veränderungen unter der Distraction bei der Verlängerungsosteotomie wurden bisher nur von Gewebeproben untersucht, die anlässlich der Adaptionsosteosynthese entnommen wurden. Differenzierte Untersuchungen, die über die morphologische Kontrolle des

Granulationsgewebes hinausgehen und insbesondere auch das Verhalten der umgebenden Muskulatur nach dieser operativen Korrektur erfassen, sind bisher noch nicht durchgeführt worden.

Im Rahmen einer größeren Arbeit sollte die Auswirkung einer Verlängerungsstreckung auf Granulationsgewebe und Muskel klinisch, röntgenologisch, histomorphologisch und biochemisch untersucht werden. Die Grundlage für die Untersuchungen bildeten die tierexperimentellen Arbeiten von H.J. Strauß 1976 und 1977 im Auftrag der Deutschen Forschungsgemeinschaft an der Orthopädischen Klinik des Wichernhauses Altdorf und am Pathologischen Institut der Universität Erlangen (15).

Problemstellung

In der vorliegenden Arbeit sollte das Verhalten wichtiger Enzyme des Muskelstoffwechsels nach diaphysärer Verlängerungsosteotomie bei Katzen untersucht werden. Insbesondere ging es dabei um die Frage, ob und ⁱⁿgegebenenfalls in welchem zeitlichen Verlauf die Dehnung der umgebenden Muskulatur zu einer Vermehrung zellulärer Bestandteile führt. Der Enzymbestand der Zellen wird durch ein sich einstellendes Gleichgewicht zwischen Enzymsynthese und Enzymabbau normalerweise weitgehendst konstant gehalten. Veränderungen der äußeren Bedingungen, wie sie zum Beispiel durch Änderungen der Stoffzufuhr oder durch Veränderung der Be-

lastung eintreten können, werden von den Zellen in der Regel im Sinne eines Anpassungsvorganges durch Änderung bestimmter Enzymaktivitäten beantwortet (4).

In welcher Weise die Muskelzelle auf einen länger anhaltenden Dehnungsreiz nach Verlängerungsosteotomie reagiert, sollte durch Messung der Aktivitäten der glykolytischen Enzyme Enolase, Triosephosphat-Isomerase, Lactat-Dehydrogenase, sowie der Creatin-Kinase als muskelspezifisches Enzym geprüft werden. Die Bestimmung von Enzymaktivitäten in Gewebehomogenaten unter $V_{\max}$ -Bedingungen, läßt Rückschlüsse auf die im Gewebe vorhandene Enzymkonzentration zu und gibt somit Auskunft über die Enzymmenge pro Gramm Frischgewicht.

Durch Bestimmung des DNA-Gehalts sollte weiterhin Information erhalten werden, ob unter diesen Versuchsbedingungen eine Vermehrung von Kernen im Faserplasma modium stattfindet. Durch Vergleich der gemessenen Enzym- und DNA-Konzentrationen zwischen unbehandelter und gestreckter Extremität sollten Rückschlüsse auf gewebliche Vorgänge bei der Distraction durch Verlängerungsosteotomie gezogen werden.

2. MATERIALIEN UND METHODEN

2.1. Versuchstiere

Insgesamt wurden 7 Katzen im Wachstumsalter für diesen Versuch verwendet. Bei den Katzen Nr.1 und Nr.2 handelte es sich um Kontrolltiere, bei denen keine Distraction vorgenommen wurde. Bei den Tieren Nr.3 - Nr.7 (Nr.3 = OP Nr.55, Nr.4 = OP Nr.54, Nr.5 = OP Nr.50, Nr.6 = OP Nr.42, Nr.7 = OP Nr.44) wurde der rechte Femur mittels Verlängerungsosteotomie distrahiert. Die Gewebsentnahme erfolgte sowohl am rechten als am linken Hinterbein (Kontrollmuskel). Dabei wurde darauf geachtet, daß die Entnahmestelle in der Mitte des ventralen Anteils des M. semitendinosus, nahe der Querosteotomie lag. Das Distraktionsgerät wurde von allen Katzen toleriert (16).

Anästhesieprogramm:

Nr.3: Gewicht 2,5 kg; Geschlecht männlich

Anästhesie: Kombination Valium 10 0,4 ml i.m.

Megaphen 25 0,4 ml i.v.

Ketanest 50 0,8 ml i.m.

Fünftägige Antibiose mit Penicillin G Hoechst,
je 1 000 000 i.E./die

Nr.4: Gewicht 2,7 kg; Geschlecht weiblich

Anästhesie wie bei Nr.3; Antibiose wie bei Nr.3

Nr.5: Gewicht 2,3 kg; Geschlecht weiblich

Anästhesie und Antibiose wie bei Nr.3

Nr.6: Gewicht 2,9 kg; Geschlecht männlich

Anästhesie wie bei Nr.3

Dreitägige Antibiose mit Reverin Injekt

Nr.7: Gewicht 4,1 kg; Geschlecht männlich

Anästhesie wie bei Nr.3

Antibiose erfolgte nicht, da das Tier unmittelbar vor der Operation einer Chloramphenicol-Behandlung unterzogen wurde.

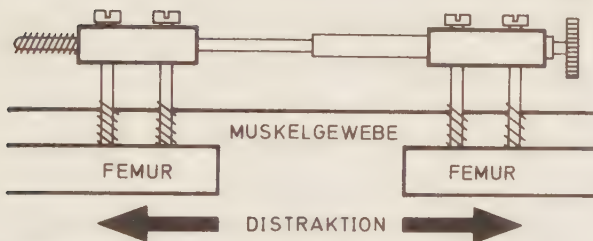


ABB.1:

PRINZIP DER FÉMURVERLÄNGERUNG MIT MODIFIZIERTER AUSFÜHRUNG DES WAGNERSCHEN DISTRAKTIONSGERÄTES.

2.2. Materialien

Alle Substanzen waren vom Reinheitsgrad p.A. oder purissimum.

Boehringer Mannheim: Adenosin-5'-diphosphat, Testkombination: Creatin-Kinase aktiviert,
D-Glycerinaldehyd-3-phosphat-diäthylacetal (kristallisiertes Monobariumsalz), Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase, Lactat-Dehydrogenase,

β -Nicotinamid-adenin-dinucleotid (kristallisiertes Mononatriumsalz), Triäthanolamin;

Merck: Diphenylamin, Essigsäure (100%), Äthylendiamintetraacetat (Dinatriumsalz), Kalbsthymus-DNA, Kaliumhydrogenphosphat, Magnesiumsulfat, Natriumhydroxid, Pufferlösungen (pH 4, pH 7, pH 10), Saccharose, Trichloressigsäure;

Serva: Dowex 50 (X8; 100-200 mesh; H^+ -Form)

2.3. Geräte

Modifizierte Ausführung des WAGNERSCHEN Distraktionsgerätes;

Branson Sonifier B-12, der Branson Sonic Power Company, Danbury, Connecticut;

Cryofuge 20-3, der Firma Heraeus Christ, Osterode;

Homogenisator, der Firma Heidolph, West Germany;

Spektralphotometer PM 4, mit TE-Wandler, der Firma Zeiss, Oberkochen, ausgestattet mit einem Servogor S-Schreiber;

Standard pH-Meter PHM 62, der Firma Radiometer, Kopenhagen;

Julabo Exatherm U 3 electronic-Thermostat, der Firma Juchheim Labortechnik, Seelbach;

Kolbenhubpipetten der Firma Eppendorf Gerätebau Netheler und Hinz GmbH, Hamburg;

Waage H 51, der Firma Mettler Waagen GmbH, Giessen.

2.4. Methoden

2.4.1. Operationstechnik

Die Katzen wurden in Narkose operiert. Nach einem lateralen Hautlängsschnitt von 3 - 5 cm wurde die Fascia lata in Längsrichtung vorsichtig gespalten und der Musculus vastus lateralis ohne Beschädigung vom Septum intermusculare laterale bis zur Linea aspera abgescho- ben. Nach Präparation und Darstellung des Femur erfolgte zunächst das Einbringen von je zwei Schrauben in den proximalen und distalen Abschnitt des Femur, an denen später der Verlängerungsapparat befestigt wurde (Abb.1). Danach wurde der Femur in der Mitte langsam querosteotomiert und eine modifizierte Ausführung des WAGNERSCHEN Distraktionsgerätes (18) von lateral angelegt. Da ein Eingriff an der Muskulatur nicht erfolgte, war lediglich eine Hautnaht zu machen, um die Wunde zu verschließen. Die Operation wurde einseitig (rechts) ausgeführt. Beachtet wurde, daß in der Folgezeit proximaler und distaler Abschnitt des Femur stets unter leichtem Zug gehalten wurde, damit eine ausreichende Stabilisierung über den Apparat erfolgte und die Tiere das operierte Bein ohne Schmerzen belasten konnten. Bei täglicher Kontrolle wurde einmal in 24 Stunden durchschnittlich eine Umdrehung des Gewindestabes durchgeführt und damit eine Verlängerung von 0,7 mm erreicht. Ein größerer Verlängerungsbe- trag innerhalb eines Tages hätte den Tieren Schmerzen

bereitet, infolge der erheblichen Weichteildehnung. Nach Abschluß der Distraktion und Erreichen der gewünschten Verlängerungsstrecke wurde entweder sofort Muskelgewebe unter Narkose entnommen, oder es wurde eine leichte Zugspannung aufrechterhalten und die zunehmende knöcherne Konsolidierung der Verlängerungsstrecke abgewartet, bei röntgenologischer Überprüfung. Jeweils nach Entnahme der Muskelproben wurde das Tier getötet und die Verlängerungsstrecke zur makroskopischen und feingeweblichen Untersuchung dargestellt.

2.4.2. Präparation des Muskelhomogenats

Unter Narkose wurde wiederum ein lateraler Hautlängsschnitt angelegt. Sowohl vom unbehandelten als auch vom gestreckten Hinterbein wurde ein ca. 1 Gramm schweres Gewebestück aus der Mitte des Musculus semitendinosus entnommen und sofort in je ein mit flüssigem Stickstoff gefülltes Plastikgefäß gegeben. Aus dem Musculus vastus lateralis wurde ebenfalls Gewebe zur feingeweblichen und myometrischen Untersuchung entnommen und in 4%igem Formaldehyd fixiert (14). Den beiden unbehandelten Katzen wurde in Narkose (2,5 ml Nembutal i.m.) Muskelgewebe entnommen.

Die tiefgefrorenen Muskelproben wurden abgewogen (Frischgewicht) und noch während des Auftauens möglichst rasch auf einem Uhrgläschen mit einer Schere zerkleinert. Das

Gewebe wurde mit 3 - 4 ml kaltem hypotonem Präparationsmedium (Zusammensetzung siehe unten) quantitativ in Zentrifugenröhrchen überspült. Unter Eiskühlung wurde der Inhalt der Zentrifugenröhrchen mit einem Branson Sonifier B-12 jeweils 3 x 20 Sekunden beschallt (mit 70 Watt; Mikrotip). Im Kühlraum wurde der Inhalt durch mehrfaches Auf- und Abgleiten eines rotierenden Teflonpistills (1500 Upm; Heidolphrührwerk) homogenisiert. Nach wiederum quantitativer Überspülung in das Zentrifugenröhrchen wurde das Rohhomogenat in einer Cryofuge der Firma Heraeus Christ bei 1500 x g 10 Minuten lang bei 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde in 10 ml Meßkölbchen eingefüllt. Der Rückstand wurde in 4 ml hypotoner Lösung aufgenommen, zur Waschung suspendiert und wie oben zentrifugiert. Die Überstände aus beiden Zentrifugationen wurden vereinigt und im Kölbchen auf 10 ml mit hypotonem Präparationsmedium aufgefüllt. Das Homogenat wurde bis zur Messung der Enzymaktivitäten bei -70°C eingefroren. Ein Aktivitätsverlust durch das Einfrieren wurde in Kontrollversuchen ausgeschlossen. Anhand der Rückstände wurde der DNA-Gehalt bestimmt. Alle gemessenen Parameter wurden auf 1 g Frischgewicht bezogen.

Zusammensetzung des Präparationsmediums:

0,0025	M Saccharose	17,15 g
0,01	M Tris	2,43 g
0,0024	M KH_2PO_4	1,10 g

auf 1 l Aqua bidest. Mit 2 M HCl auf pH 7,4 eingestellt.

2.4.3. Messung der Enzymaktivitäten

Der pH-Wert der verwendeten Lösungen wurde mit einem pH-Meter (PHM 62, der Firma Radiometer) gemessen, das mit Standardpufferlösungen (pH 4, pH 7, pH 10) geeicht war. Die spektrophotometrischen Messungen wurden in Glas-Küvetten ($d = 10 \pm 0,01$ mm, Firma Hellma) mit einem Zeiss PM 4 Spektralphotometer durchgeführt. Bei allen enzymatischen Bestimmungen diente das NAD(P) / NAD(P)H-System als spektrophotometrischer Indikator ($\lambda = 340$ nm; Extinktionskoeffizient $\epsilon_{340} = 6,22 \cdot 10^6$ Mol⁻¹cm²). Enzymaktivitäten wurden stets bei 25°C (Thermostat Exatherm U 3, Firma Juchheim) gemessen und mit einem Potentiometerschreiber (Servogor S-Schreiber, der Firma Goerz Electro) aufgezeichnet.

Auswertung:

$$U = \frac{\mu\text{Mol}}{\text{min}}$$

Die Einheit Unit (U) bedeutet die Umsetzung von 1 μMol Substrat pro Minute. Die Enzymaktivitäten werden mit Hilfe der gemessenen Extinktionsänderung pro Minute wie folgt berechnet:

$$U = \frac{\Delta E / \text{min}}{\epsilon} \quad \epsilon_{\text{NADH}} = 6,22 \cdot 10^6 \text{ Mol}^{-1} \text{cm}^2$$

$$U = \frac{\mu\text{Mol}}{\text{min}} = \frac{\Delta E / \text{min} \cdot 10^6}{6,22 \cdot 10^6}$$

Der Faktor 10^6 dient der Umrechnung von Mol in μMol .

$$\frac{U}{\text{ml Probe}} \left[\frac{\mu\text{Mol}}{\text{min} \cdot \text{ml}} \right] = \frac{\Delta E / \text{min} \cdot V_T}{6,22 \cdot d \cdot V_P}$$

Diese Berechnung ergibt die Enzymaktivität ($\mu\text{Mol}/\text{min}$) in einem ml Probe. Für die Vergleichsuntersuchungen war es notwendig, die Enzymaktivität auf ein Gramm Muskelfrischgewicht (Mg) zu beziehen, was mit Hilfe folgender Formel erreicht wurde:

$$\frac{U}{\text{g Frischgewicht}} \left[\frac{\mu\text{Mol}}{\text{min} \cdot \text{g}} \right] = \frac{\Delta E / \text{min} \cdot V_T \cdot V_U \cdot F_U}{6,22 \cdot d \cdot V_P \cdot \text{Mg}}$$

Für die Umrechnung auf U/g Frischgewicht wurde der Verdünnungsfaktor (F_U) der Überstände aus den Zentrifugationen des Rohhomogenats berücksichtigt.

2.4.3.1. Messung der Aktivität der Enolase (EC 4.2.1.11)

Reaktionsprinzip:



Meßansatz:

Lösungen (pH 7,6)	Volumen μl	Endkonzentration
TRA-HCl (0,1 M)	2500	78,8 mM
MgSO ₄ (0,1 M)	100	3,2 mM
NADH (11,3 mM)	30	110 μM
Glycerat-2-P (14 mM)	150	440 μM
ADP (17 mM)	200	1,1 mM
LDH (2750 U/ml)	20	17,3 U/ml
PK (400 U/ml)	20	2,5 U/ml
Probe ($F_U = 50$) Start	150	-
V_T	3170	

Meßbedingungen siehe 2.4.3.

Reagentien und Lösungen:

TRA-HCl (0,1 M): 18,57 g auf einen Liter Aqua bidest,

mit 2 M NaOH pH 7,6 eingestellt;

MgSO₄ (0,1 M): 24,648 g auf einen Liter Aqua bidest;

NADH (11,3 mM): 10 mg/ml; Glycerat-2-P (14 mM): 10 mg/ml;

ADP (17 mM): 10 mg/ml; LDH (2750 U/ml): 5 mg/ml;

PK (400 U/ml): 2 mg/ml

2.4.3.2. Messung der Aktivität der Triosephosphat-

Isomerase (EC 5.3.1.1)

Reaktionsprinzip:

I. $\text{GAP} \rightleftharpoons \text{DAP}$

II. $\text{DAP} + \text{NADH} \xrightleftharpoons{\text{GDH}} \text{GP} + \text{NAD}$

Meßansatz:

Lösungen (pH 7,6)	Volumen µl	Endkonzentration
TRA-HCl (0,1 M)	750	94,4 mM
GDH (174 U/ml)	5	1,1 U/ml
NADH (11,3 mM)	10	140 µM
GAP (18 mM) Vorlauf	10	230 µM
Probe (F ₀ = 400) Start	20	-
V _T	0,795	

Meßbedingungen siehe 2.4.3.

Aus der Meßwertdifferenz $\Delta E/\text{min} = \Delta E_2 - \Delta E_1/\text{min}$

(Extinktionswerte des Vorlaufs bzw. des Starts) erfolgte die Berechnung der spezifischen Aktivität wie in 2.4.3. angegeben.

Lösungen:

TRA-HCl und NADH siehe 2.4.3.1.

Herstellung der GAP-Lösung: 25 mg D,L-Glycerinaldehyd-3-phosphat-diäthylactat (Bariumsalz) in 5 ml Aqua bidest gelöst und mit 0,4 ml Dowex 50 (X8; 100-200 mesh; H^+ -Form) versetzt. Die Mischung wurde 1 min kräftig geschüttelt und der pH-Wert geprüft. Dann wurde die Lösung vom Austauscherharz abgesaugt, mit ca. 20 ml Aqua nachgespült und in einem Meßkolben auf 25 ml aufgefüllt. Das Kölbchen wurde 5 min in ein siedendes Wasserbad gestellt. Die Konzentration der entstandenen GAP-Lösung wurde enzymatisch bestimmt. Die GAP-Lösung ist bei $-15^{\circ}C$ mehrere Wochen haltbar.

2.4.3.3. Messung der Aktivität der Lactat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.27)

Reaktionsprinzip:



Meßansatz:

Lösungen (pH 7,6)	Volumen μl	Endkonzentration
TRA-EDTA (0,1 M)	1000	94,8 μM
Probe ($F_{\text{U}} = 100$)	20	-
NADH (11,3 mM)	10	110 μM
Pyruvat (0,1 M) Start	25	2,34 mM
V_{T}	1055	

Meßbedingungen siehe 2.4.3.

Lösungen:

TRA-EDTA-Puffer (0,1 M): 18,57 g TRA-HCl und 3,172 g Titriplex II (EDTA) wurden in Aqua bidest gelöst, mit 2 M NaOH auf pH 7,6 eingestellt und

mit H_2O auf einen Liter aufgefüllt;

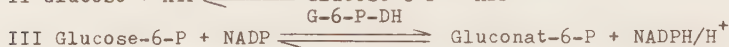
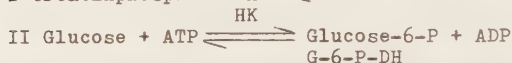
Pyruvat (0,1 M): 112,2 mg pro 10 ml H_2O ;

NADH-Lösung siehe 2.4.3.1.

2.4.3.4. Messung der Aktivität der Creatin-Kinase

(EC 2.7.3.2)

Reaktionsprinzip:



Meßansatz:

Lösungen (pH 7,6)	Volumen μ l
Lösung 1	1250
Lösung 2	50
Probe ($F_u = 900$)	20
Lösung 3 Start	5
V_T	1325

Meßbedingungen siehe 2.4.3.

Nach dem Start wurde der Ansatz 5 min bei 25 ° C stehen gelassen, dann gegen Leerwert Luft gemessen.

Reagentien:

Lösung 1	Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung	Endkonzentration im Testansatz
A) Triäthanolamin	110 mM	103 mM
Glucose	21,8 mM	20,6 mM
Mg-Acetat	10,9 mM	10,3 mM
B) ADP	1,1 mM	1,03 mM
AMP	11 mM	10,3 mM
NADP	0,65 mM	0,61 mM
C) Creatinphosphat	38,1 mM	35,9 mM

Zur Herstellung der Lösung 1 wurde A in 60 ml Aqua bidest gelöst, dann wurde B und C unter nachspülen in A aufgenommen.

Lösung 2	Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung	Enkonzentration im Testansatz
D) Gluthation	245 mM	9,2 mM
Lösung 3		
E) HK/G-6-P-DH	je $\geq$ 163 U/ml	je $\geq$ 0,6 U/ml

Zur Herstellung von Lösung 2 wurde D in 2,5 ml Aqua bidest gelöst, E wurde unverdünnt verwendet.

2.4.3.5. Bestimmung des DNA-Gehalts

Um den DNA-Gehalt in biologischem Material zu bestimmen, wird das Gewebe einer differenzierten Folge von Fällungen unterworfen (13). Die Rückstände aus den Zentrifugationen der Muskelstücke wurden mit 2,5 ml 10%iger TCA versetzt und 10 min bei 10 000 x g und 0°C zentrifugiert. Der Überstand mit den löslichen Nucleotiden wurde verworfen und für den Niederschlag dieselbe Prozedur wiederholt.

Daraufhin wurden die Niederschläge mit 5 ml 5%iger TCA versetzt, 15 min bei 90°C zur Hydrolyse der Nucleinsäuren erhitzt und nach dem Abkühlen 10 min bei 10 000 x g zentrifugiert. Eine 0,1%ige Standardlösung (siehe unten) wurde entsprechend behandelt. Die Überstände (Gewebehydrolysate) wurden zur DNA-Bestimmung eingesetzt. Mit der Methode nach DISCHE (6) wurde aus den Hydrolyseprodukten der DNA (Oligonucleotide) spezifisch die Desoxy-

ribose bestimmt.

Messung:

1,0 ml Probe (Gewebe-Hydrolysat) wurde mit 2,0 ml Diphenylaminreagenz (siehe unten) versetzt. Die Ansätze wurden 15 min im kochenden Wasserbad erhitzt, danach sofort gekühlt (strömendes Wasser). Das in stark saurer Lösung gebildete Dehydratationsprodukt der Desoxyribosen β -Acetylacrolein reagierte mit Diphenylamin zu einem blauen Chromogen, das spektrophotographisch innerhalb der nächsten 2 Stunden bei 595 nm gegen einen Blindwert (2 ml Diphenylaminreagenz + 1 ml 5%ige TCA) gemessen wurde. Bei jeder Messung wurde ein DNA-Standard mitgeführt.

Meßansatz (Volumen in ml):

	Hydrolysate von		Blindwert
	Gewebe	Standard	
	1,0	1,0	-
Diphenylaminreagenz	2,0	2,0	2,0
TCA (5%ig)	-	-	1,0

Lösungen:

DNA-Standardlösung: 50 mg Kalbsthymus-DNA in 50 ml 0,005 M NaOH gelöst;

Diphenylaminreagenz: 1g Diphenylamin (2x umkristallisiert) auf 100 ml 100%iger Essigsäure, dazu 2,75 ml 96%ige H_2SO_4 . Die Lösung ist im Dunkeln und in der Kälte aufbewahrt (kristallisiert aus) unbegrenzt haltbar. Die 10%ige Trichloressigsäure muß eiskalt sein.

Die Auswertung erfolgte mit Hilfe eines Standards, Be-

zugssystem war das Muskel-Frischgewicht. Die Berechnung des DNA-Gehalts erfolgte nach der Formel:

$$C \left[\frac{\text{mg DNA}}{\text{g Frischgewicht}} \right] = \frac{\Delta_{E_P}}{\Delta_{E_{St}}} \cdot C_{St} \cdot \frac{V_{GH}}{V_{St}} \cdot \frac{V_R}{Mg}$$

3. ERGEBNISSE

3.1. Erreichte Extensionsstrecken, Dauer der Distraktion und Muskelfrischgewichte

Die Tabelle 1 zeigt die Muskelfrischgewichte der behandelten Tiere. Sowohl bei der Bestimmung der Enzymaktivitäten als auch bei der Bestimmung des DNA-Gehalts wurde auf Gramm Frischgewicht bezogen, wobei die Muskelfrischgewichte das Bezugssystem waren.

Außerdem ist aus der Tabelle 1 die Verlängerungszeit (Zeit vom Tag der ersten Streckung bis zum Tag der Muskelentnahme) und die erreichte Verlängerungsstrecke der einzelnen Katzen zu entnehmen. Die Katze Nr.3 wurde 8 Tage gestreckt und dabei ein Verlängerungsbetrag von 0,5 cm erreicht. Die Katze Nr.4 wurde fast doppelt so lange gestreckt, 17 Tage, wobei der Femur um 1,2 cm verlängert wurde. Bei den Tieren Nr.5 und Nr.6 wurde die maximale Verlängerung von 2,0 cm erreicht. Da das Gewebe auch nach Beendigung der mechanischen Verlängerung unter Zug gehalten wurde, hatte das gerätebedingte Nichterreichen der maximalen Verlängerungsstrecke keinen Einfluß auf die Auswertung. Das Distraktionsgerät wurde von allen untersuchten Katzen toleriert, die Kniegelenke waren frei beweglich.

	Muskelfrischgewichte		Verlängerungszeit	Extensionsstrecke
	unbehandelte Seite	gestreckte Seite		
Katze Nr.3	1,125 g	1,115 g	8 Tage	0,5 cm
Katze Nr.4	0,995 g	1,647 g	17 Tage	1,2 cm
Katze Nr.5	1,260 g	1,490 g	34 Tage	2,0 cm
Katze Nr.6	1,080 g	1,593 g	44 Tage	2,0 cm
Katze Nr.7	1,590 g	1,160 g	70 Tage	1,5 cm

Tab.1:

MUSKELFRISCHGEWICHTE, VERLÄNGERUNGSZEITEN UND EXTENSIONSSTRECKEN DER FEMUROSTEOTOMIERTEN KATZEN.

3.2. Vergleich der Enzymaktivitäten im M. semitendinosus der rechten und linken Extremität ohne Behandlung

Um die Frage zu untersuchen, ob sich während der Distraction einer hinteren Extremität der Katze die Enzymkonzentrationen des Muskelgewebes ändern, wurden die Aktivitäten unter $V_{\max}$ -Bedingungen gemessen. Wie aus Tab.2 ersichtlich, ist sowohl bei der Katze Nr.1 wie auch bei der Katze Nr.2 kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden hinteren Extremitäten hinsichtlich der Aktivität der Enolase erkennbar. Ebenso ist nur ein geringgradiger Unterschied zwischen den beiden Individuen selbst feststellbar.

Auch bei der Triosephosphat-Isomerase ist die Enzymaktivität pro Gramm Frischgewicht zwischen linker und rechter Seite gleich. Der Unterschied zwischen den beiden Tieren ist gering.

Bei der Lactat-Dehydrogenase ist zwar bei beiden Tieren zwischen linker und rechter Extremität kein Unterschied festzustellen, jedoch hat die Katze Nr.2 eine um ca. 200 U/g Frischgewicht geringere Aktivität sowohl links als auch rechts.

Wie bei der Lactat-Dehydrogenase ist auch bei der Creatin-Kinase ein starker Unterschied in den Aktivitätsspiegeln zwischen den Katzen Nr.1 und Nr.2 erkennbar. Der Unterschied zwischen linker und rechter Extremität bei den einzelnen Individuen ist jedoch nicht signifikant.

Katze	Extremität	Aktivitäten der Enzyme (U/g Frischgewicht)			
		CK	EN	TIM	LDH
Nr.1	links	3073 $\pm$ 122	146 $\pm$ 2	1006 $\pm$ 25	762 $\pm$ 8
	rechts	3223 $\pm$ 58	133 $\pm$ 2	993 $\pm$ 23	718 $\pm$ 13
Nr.2	links	2462 $\pm$ 59	125 $\pm$ 7	808 $\pm$ 2	549 $\pm$ 18
	rechts	2377 $\pm$ 38	133 $\pm$ 2	824 $\pm$ 22	533 $\pm$ 9

Tab.2:

VERGLEICH DER AKTIVITÄTEN VON ENZYMEN DES ENERGIELIEFERNDEN STOFFWECHSELS IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE ZWISCHEN LINKER UND RECHTER EXTREMITÄT OHNE BEHANDLUNG. Mittelwerte der jeweils aus einem Muskelhomogenat erhaltenen Meßwerte mit Standardabweichungen sind in U/g Frischgewicht angegeben.

3.3. Vergleich der Aktivitätsmuster von Enzymen im M.semitendinosus der rechten und linken Extre- mität ohne Behandlung

Vergleichbare Proportionen der Embden-Meyerhof-Kette wurden erstmals bei Insektenmuskeln gefunden (17).

D. PETTE klassifizierte anhand von Aktivitätsmustern verschiedene Muskeltypen, vornehmlich "rote" und "weiße" (11). In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob durch eine Verlängerungsosteotomie, die eine Belastungsänderung darstellt, eine Veränderung der Aktivitätsmuster auftritt.

Vergleicht man in Abb.2 die Aktivitätsmuster der beiden unbehandelten Katzen Nr.1 und Nr.2, so ist zu erkennen, daß die Enzymgruppen proportionskonstant sind. Lediglich in ihrer Aktivitätshöhe unterscheiden sie sich geringfügig. Das Aktivitätsmuster der linken und rechten Extremität der jeweiligen Katze ist ebenfalls gleich.

3.4. Vergleich des DNA-Gehalts im M. semitendinosus der rechten und linken Extremität ohne Behand- lung

Durch Bestimmung des DNA-Gehalts sollte Information erhalten werden, ob durch die erhebliche Weichteildehnung infolge Verlängerungsosteotomie eine Vermehrung von Kernen im Faserplasmodium stattfindet. Wie aus Tab.3 ersichtlich, weisen die DNA-Konzentrationen der Katzen Nr.1

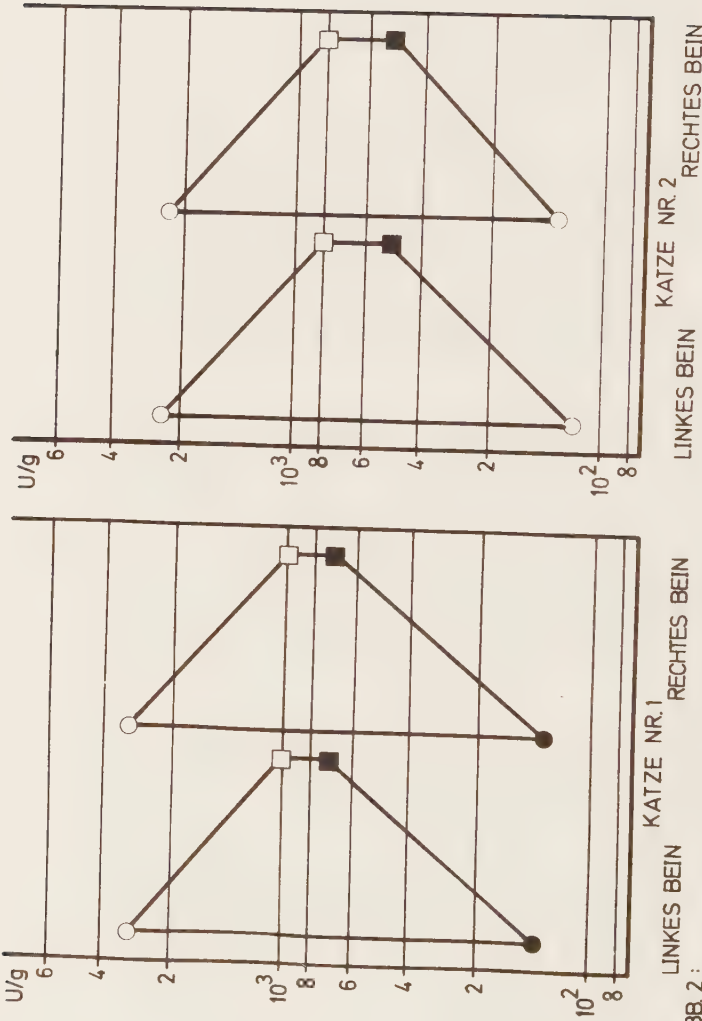


ABB. 2 :
 VERGLEICH DER AKTIVITÄTSMUSTER VON ENZYMEN DES ENERGIELIEFERNDEN STOFFWECHSELS
 IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE ZWISCHEN LINKER UND RECHTER EXTREMITÄT OHNE
 BEHANDLUNG.
 TRIOSEPHOSPHAT-ISOMERASE □, LACTAT-DEHYDROGENASE ■, CREATIN-KINASE ○,
 ENOLASE ●

und Nr.2 keine signifikanten Unterschiede auf. Wenn man die beiden Tiere miteinander vergleicht, so erkennt man bei der Katze Nr.2 leicht geringere Kontrollwerte, sowohl der linken wie der rechten Extremität.

	mg DNA/g Frischgewicht	
	Linke Extremität	Rechte Extremität
Katze Nr.1	0,585	0,595
Katze Nr.2	0,535	0,550

Tab.3:

VERGLEICH DES DNA-GEHALTS IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE ZWISCHEN LINKER UND RECHTER EXTREMITÄT OHNE BEHANDLUNG.

3.5. Vergleich der Enzymaktivitäten im M. semitendinosus der unbehandelten und gestreckten Extremität

Wie in Abschnitt 2 erwähnt, wirken sich unterschiedliche Belastung, aber auch Unterschiede im Ernährungszustand, im Alter, im Geschlecht auf den Enzymhaushalt aus. Da die untersuchten Katzen eben darin Unterschiede aufwiesen, war es nicht möglich, die Enzymaktivitäten der sieben Katzen in direkte Beziehung zueinander zu setzen. Um eine Aussage machen zu können, wurde die jeweilige prozentuale Abweichung zwischen dem unbehandelten und dem gestreckten Bein errechnet. Diese prozentualen Abweichungen der einzelnen Tiere wurden dann, geordnet nach der Dauer der Verlängerung, in Beziehung zueinander gesetzt.

3.5.1. Enolase

Die Ergebnisse in der Tab.4 zeigen, daß bei allen unter-

suchten Katzen die Enolaseaktivitäten der durch Verlängerungsosteotomie gestreckten Extremitäten gegenüber den unbehandelten erniedrigt sind.

Katze	Dauer der Distraction	Enolaseaktivitäten im M.semitendinosus			
		unbehandelt	gestreckt	Diff.	%Abweichung
Nr.3	8 Tage	134 $\pm$ 3	118 $\pm$ 1	-16	- 11,9
Nr.4	17 Tage	157 $\pm$ 7	109 $\pm$ 5	-48	- 30,6
Nr.5	34 Tage	95 $\pm$ 1	34 $\pm$ 1	-61	- 64,2
Nr.6	44 Tage	130 $\pm$ 5	84 $\pm$ 2	-46	- 35,4
Nr.7	70 Tage	166 $\pm$ 1	117 $\pm$ 3	-49	- 29,5

Tab.4:

VERGLEICH DER AKTIVITÄT DER ENOLASE IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE ZWISCHEN UNBEHANDELTEN UND GESTRECKTEN EXTREMITÄT. Mittelwerte der jeweils aus einem Muskelhomogenat erhaltenen Meßwerte mit Standardabweichungen und die Differenz zwischen unbehandeltem und gestrecktem Muskel sind im U/g Frischgewicht angegeben. Die Extensionsstrecken nach diaphysärer Verlängerungsosteotomie sind aus Tab.1 zu entnehmen.

Bei der Katze Nr.3, deren Femur in 8 Tagen um 0,5 cm verlängert wurde, ist auf der gestreckten Seite bereits ein Aktivitätsverlust von nahezu 12 % erkennbar. Bei der Katze Nr.4 erfolgte die Muskelgewebsentnahme 17 Tage nach dem Einsetzen des WAGNERSCHEN Distraktionsgerätes. In dieser Zeit erfolgte eine Streckung um 1,2 cm. Auf der distrahierten Seite ist ein Verlust an Enolaseaktivität von 30 % feststellbar. Um über das Doppelte steigert sich der Aktivitätsverlust bei der Katze Nr.5. Nach 34 Tagen

Distraktionsdauer, wodurch die Maximalverlängerung von 2 cm erreicht wurde, erfolgte ein Aktivitätsabfall von 64 %. Bei den Tieren Nr.6 und Nr.7 wird der Aktivitätsverlust wieder geringer. Die Katze Nr.6 wurde 44 Tage distrahiert und dabei eine Verlängerungsstrecke von 2 cm erreicht. Aus der Tab.4 ist zu ersehen, daß ein Aktivitätsverlust von 35 % auftrat. Bei der Katze Nr.7 erfolgte die Gewebsentnahme am siebzigsten Tag nach der Operation. Die Verlängerungsstrecke betrug nur 1,5 cm, was gerätebedingt war (siehe 3.1.). Der Aktivitätsverlust ging auf 30 % zurück.

3.5.2. Triosephosphat-Isomerase

Die Enzymaktivitäten der Triosephosphat-Isomerase der gestreckten Extremitäten liegen alle unter dem Aktivitätsspiegel der unbehandelten Extremitäten.

Katze	Dauer der Distraktion	Triosephosphat-Isomerase-Aktivitäten im M. semitendinosus			
		unbehandelt	gestreckt	Diff.	%Abweichung
Nr.3	8 Tage	1335 $\pm$ 65	1238 $\pm$ 59	- 97	- 7,2
Nr.4	17 Tage	1298 $\pm$ 27	799 $\pm$ 55	- 499	- 38,4
Nr.5	34 Tage	826 $\pm$ 15	377 $\pm$ 13	- 449	- 54,3
Nr.6	44 Tage	1164 $\pm$ 29	833 $\pm$ 44	- 331	- 28,4
Nr.7	70 Tage	1350 $\pm$ 28	979 $\pm$ 46	- 371	- 27,5

Tab.5:

VERGLEICH DER AKTIVITÄT DER TRIOSEPHOSPHAT-ISOMERASE IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE ZWISCHEN UNBEHANDELTEN UND GESTRECKTER EXTREMITÄT. Mittelwerte der jeweils aus einem Muskelhomogenat erhaltenen Meßwerte mit Standardabweichungen und die Differenz zwischen unbehandeltem und gestrecktem Muskel sind in U/g Frischgewicht angegeben. Die Exten-

sionsstrecken nach diaphysärer Verlängerungsosteotomie sind aus Tab.1 zu entnehmen.

Die Tab.5 zeigt, daß die Aktivität der Triosephosphat-Isomerase bei Tier Nr.3 um 7 % abfällt. Am siebzehnten Tag nach der Operation, bei Tier Nr.4, beträgt der Aktivitätsabfall bereits 38 %. Eine weitere Steigerung des Aktivitätsverlustes ist bei Katze Nr.5 zu erkennen, er beträgt über 54 %. Bei den Tieren Nr.6 und Nr.7 geht der Aktivitätsabfall um die Hälfte zurück. Er beträgt bei der Nr.6 28 %, bei der Nr.7 27 %.

3.5.3. Lactat-Dehydrogenase

Das Enzym Lactat-Dehydrogenase zeigt ein zu den anderen Enzymen unterschiedliches Verhalten. Wie aus der Tab.6 zu entnehmen, erhöht sich acht Tage nach dem Einsetzen des Distraktionsapparates die Aktivität der Lactat-Dehydrogenase auf der gestreckten Seite um 16 %. Bei der Katze Nr.4 steigert sich diese Aktivitätszunahme auf knappe 52 %. Dann erfolgt ein "plötzlicher" starker Abfall der Aktivität um - 58 % auf der gestreckten Seite bei Tier Nr.5. Dieser maximale Aktivitätsverlust wird dann langsam wieder abgebaut, beträgt bei Tier Nr.6 nur noch 22 %, um bei Tier Nr.7 völlig zu verschwinden. Nach 70 Tagen ist der ursprüngliche Aktivitätsspiegel wieder erreicht, oder der Aktivitätsunterschied zwischen unbehandelter und gestreckter Extremität ausgeglichen.

Katze	Dauer der Distraction	Lactat-Dehydrogenase-Aktivität im M. semitendinosus			
		unbehandelt	gestreckt	Diff.	%Abweichung
Nr.3	8 Tage	450 $\pm$ 11	522 $\pm$ 16	+ 72	+ 16
Nr.4	17 Tage	308 $\pm$ 9	468 $\pm$ 26	+ 160	+ 51,9
Nr.5	34 Tage	171 $\pm$ 10	72 $\pm$ 4	- 99	- 57,8
Nr.6	44 Tage	223 $\pm$ 10	174 $\pm$ 10	- 49	- 21,9
Nr.7	70 Tage	331 $\pm$ 13	330 $\pm$ 15	- 1	- 0,3

Tab.6:

VERGLEICH DER AKTIVITÄT DER LACTAT-DEHYDROGENASE IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE ZWISCHEN UNBEHANDELTEN UND GESTRECKTER EXTREMITÄT. Mittelwerte der jeweils aus einem Muskelhomogenat erhaltenen Meßwerte mit Standardabweichungen und die Differenz zwischen unbehandeltem und gestrecktem Muskel sind in U/g Frischgewicht angegeben. Die Extensionsstrecken nach diaphysärer Verlängerungsosteotomie sind aus der Tab.1 zu entnehmen.

3.5.4. Creatin-Kinase

Die Aktivitäten der Creatin-Kinase sind, wie aus Tab.7 erkennbar, bei allen untersuchten Individuen auf der operierten Seite geringer als auf der unbehandelten. Der Aktivitätsverlust beträgt auf der gestreckten Seite nach acht Tagen fast 12 %. Bei der Katze Nr.4 erkennt man einen Abfall um über 27 %. Bei der Katze Nr.5 erhöht sich dieser Abfall auf über 31 %. Bei den Tiere Nr.6 und Nr.7 wird der durch die Verlängerungsosteotomie bewirkte Aktivitätsverlust wieder geringer; er beträgt bei der Katze Nr.6 fast 19 %, bei der Katze Nr.7 nahezu 24 %.

Katze	Dauer der Distraction	Creatin-Kinase-Aktivitäten im M.semi- tendinosus			
		unbehandelt	gestreckt	Diff.	%Abweichung
Nr.3	8 Tage	2716 $\pm$ 11	2398 $\pm$ 115	- 318	- 11,7
Nr.4	17 Tage	3359 $\pm$ 74	2435 $\pm$ 56	- 924	- 27,5
Nr.5	34 Tage	1213 $\pm$ 5	833 $\pm$ 57	- 380	- 31,3
Nr.6	44 Tage	2368 $\pm$ 34	1922 $\pm$ 36	- 446	- 18,8
Nr.7	70 Tage	3003 $\pm$ 81	2291 $\pm$ 29	- 712	- 23,7

Tab.7:

VERGLEICH DER AKTIVITÄT DER CREATIN-KINASE IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE ZWISCHEN UNBEHANDELTEN UND GESTRECKTEN EXTREMITÄT. Mittelwerte der jeweils aus einem Muskelhomogenat erhaltenen Meßwerte mit Standardabweichungen und die Differenz zwischen unbehandeltem und gestrecktem Muskel sind in U/g Frischgewicht angegeben. Die Extensionsstrecken nach diaphysärer Verlängerungsosteotomie sind aus Tab.1 zu entnehmen.

3.6. Vergleich der Aktivitätsmuster im M. semitendinosus der unbehandelten und gestreckten Extremität

Betrachtet man in Abb.3 die Aktivitätsmuster der Katze Nr.3, so erkennt man eine leichte Veränderung auf der gestreckten Seite, sowohl was die Form betrifft, als auch in der Aktivitätshöhe, die insgesamt leicht gesenkt ist. Bei der Nr.4 ist besonders die Veränderung der Form auffällig, die durch den starken Konzentrationsunterschied der LDH zwischen unbehandelter und gestreckter Extremität zustande kommt. Insgesamt ist der Aktivitätsspiegel leicht gesenkt.

In der Abb.4 erkennt man, daß nicht nur der Aktivitätsspiegel der gestreckten Seite der Katze Nr.5 nach unten

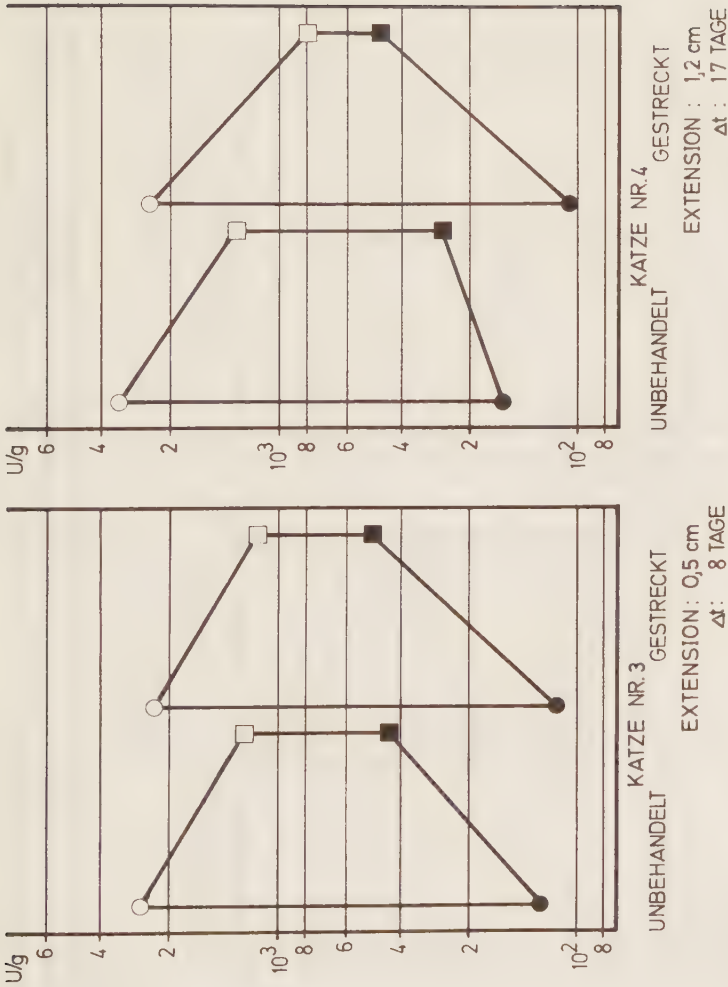


ABB. 3:
 VERGLEICH DER AKTIVITÄTSMUSTER VON ENZYMEN DES ENERGIELIEFERNDEN STOFFWECHSELS
 IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE ZWISCHEN UNBEHANDELTEN UND GESTRECKTEN EXTREMITÄTEN.
 TRIOSEPHOSPHAT-ISOMERASE □, LACTAT-DEHYDROGENASE ■, CREATIN-KINASE ○, ENOLASE ●

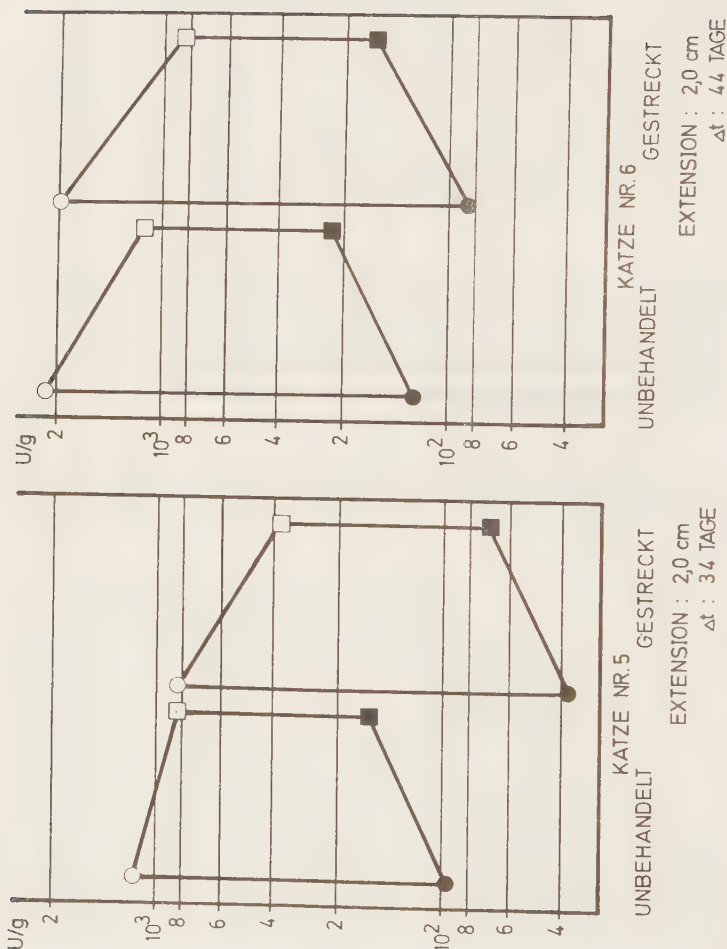


ABB. 4:
VERGLEICH DER AKTIVITÄTSMUSTER VON ENZYMEN DES ENERGIELIEFERNDEN STOFFWECHSELS
IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE ZWISCHEN UNBEHANDELTEN UND GESTRECKTEN EXTREMITÄTEN.
TRIOSEPHOSPHAT-ISOMERASE □, LACTAT-DEHYDROGENASE ■, CREATIN-KINASE ●, ENOLASE ●

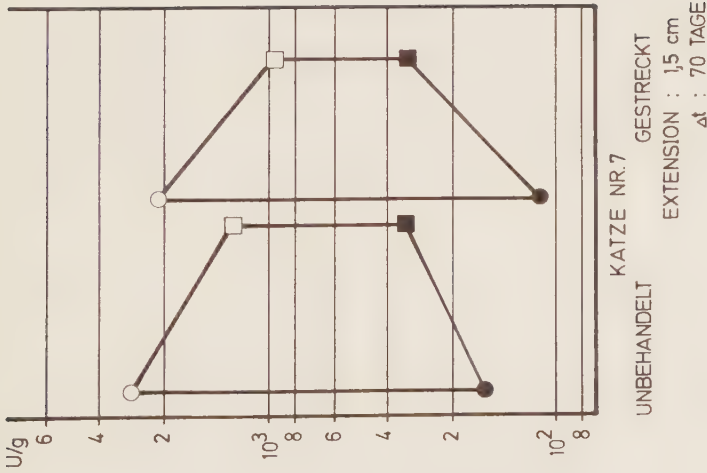


ABB. 5:
VERGLEICH DER AKTIVITÄTSMUSTER VON ENZYMEN DES ENERGIELIEFERNDEN STOFFWECHSELS
IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE ZWISCHEN UNBEHANDELTEN UND GESTRECKTER EXTREMITÄT.
TRIOSEPHOSPHAT-ISOMERASE □, LACTAT-DEHYDROGENASE ■, CREATIN-KINASE ○,
ENOLASE ●

verschoben ist, sondern auch der Aktivitätsspiegel der unbehandelten Seite. Die Proportionen haben sich ebenfalls stark verändert, vergleicht man sie mit den Kontrollabbildungen der Katzen Nr.1 und Nr.2 (siehe Abb.2). Bei der Katze Nr.6 ist der Aktivitätsspiegel sowohl der unbehandelten als auch der gestreckten Seite wieder angestiegen, die Form noch stark verändert. In Abb.5 sind die Aktivitätsmuster der Katze dargestellt, bei der die Dehnung am längsten aufrechterhalten wurde. Dem Aussehen nach ähneln die beiden Darstellungen denen der Katze Nr.3. Nach siebenzig Tagen Dehnung haben die Aktivitätsmuster der Katze Nr.7 nahezu wieder die gleiche Form und die gleiche Aktivitätshöhe. Lediglich die Enolase und die Triosephosphat-Isomerase zeigen noch leichte Unterschiede.

3.7. Vergleich des DNA-Gehaltes im M. semitendinosus der unbehandelten und gestreckten Extremität

Bei sämtlichen untersuchten Katzen ist eine Zunahme des DNA-Gehaltes feststellbar. Wie aus Tab.8 zu entnehmen, erhöht sich bei der Katze Nr.3, die 8 Tage distrahiert wurde, der DNA-Gehalt auf der operierten Seite um 9 %. Bei der Katze Nr.4, bei der am 17ten Tag die Gewebsentnahme erfolgte, steigt der DNA-Gehalt um über 36 %. Eine maximale Zunahme von 124 % ist bei der Katze Nr.5 zu erkennen. Dieses Tier wurde 34 Tage distrahiert. Bei der Katze Nr.6 zeigt sich ein Anstieg um über 97 %; dieses Tier wurde 44 Tage distrahiert. Erst beim Tier Nr.7, das 70 Tage

distrahiert wurde, wird die Zunahme des DNA-Gehalts wieder geringer, sie beträgt nur mehr 6 %.

Katze	Dauer der Distraktion	mg DNA/g Frischgewicht im M. semitendinosus		
		unbehandelt	gestreckt	% Abweichung
Nr.3	8 Tage	0,55	0,60	+ 9,1
Nr.4	17 Tage	0,41	0,56	+ 36,6
Nr.5	34 Tage	0,49	1,10	+ 124,0
Nr.6	44 Tage	0,44	0,87	+ 97,7
Nr.7	70 Tage	0,45	0,48	+ 6,6

Tab.8:

VERGLEICH DES DNA-GEHALTS IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE ZWISCHEN UNBEHANDELTEN UND GESTRECKTEN EXTREMITÄT. Der DNA-Gehalt ist in mg DNA/g Frischgewicht angegeben. Die Extensionsstrecken nach diaphysärer Verlängerungsosteotomie sind aus Tab.1 zu entnehmen.

3.8. Vergleich der Enzymaktivitäten von Enolase, Triosephosphat-Isomerase, Lactat-Dehydrogenase und Creatinkinase im M. semitendinosus der Katze zwischen unbehandelter und gestreckter Extremität, bezogen auf den DNA-Gehalt

Der Bezug der Enzymaktivitäten auf den DNA-Gehalt des Muskelgewebes gibt Auskunft über die Enzymkapazität des mehrkernigen Faserplasmodiums, wenn der DNA-Gehalt und damit die Kernzahl unverändert bleibt. Dies ist, wie Tab.9 zeigt, bei der unbehandelten Extremität unbeachtet geringer individueller Schwankungen der Fall. Bei der gestreckten Extremität dagegen ändert sich der DNA-Gehalt erheblich,

so daß diese Bezugsgröße für Aussagen über die Enzymkapazität nicht herangezogen werden kann. Die Tab.9 zeigt, daß diese Bezugsgröße im Faserplasmodium der unbehandelten Seite für das Enzym Enolase individuellen Schwankungen unterliegt, in der Muskulatur des gestreckten Beines jedoch stark erniedrigt ist. Dasselbe gilt für die Enzyme Triosephosphat-Isomerase und Creatin-Kinase. Für die Lactat-Dehydrogenase ist bei den Katzen Nr.3 und Nr.4 die "Enzymkapazität" erhöht, bei den Katzen Nr.5 und Nr.6 stark erniedrigt. Dies ist jedoch Ausdruck sowohl der Änderung der Enzymaktivität als auch der Änderung des DNA-Gehalts, so daß bei der behandelten Extremität aus diesen Daten nicht unbedingt auf eine Änderung der Enzymkapazität geschlossen werden kann.

Katze	U/ mg DNA							
	unbehandelte Extremität				gestreckte Extremität			
	EN	TIM	LDH	CK	EN	TIM	LDH	CK
Nr.3	244	2427	818	4938	197	2063	870	3997
Nr.4	383	3165	751	8193	195	1427	835	4384
Nr.5	194	1685	343	2475	31	343	65	757
Nr.6	295	2645	507	5382	96	957	200	2209
Nr.7	369	3000	736	6673	244	2039	687	4772

Tab.9:

VERGLEICH DER ENZYMAKTIVITÄTEN VON ENOLASE, TRIOSEPHOSPHAT-ISOMERASE, LACTAT-DEHYDROGENASE UND CREATIN-KINASE IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE ZWISCHEN UNBEHANDELTEN UND GESTRECKTER EXTREMITÄT, BEZOGEN AUF DEN DNA-GEHALT.

3.9. Vergleich der prozentualen Abweichungen der Enzymaktivitäten und des DNA-Gehalts zwischen un- behandelter und gestreckter Extremität

Zur Berechnung der prozentualen Abweichungen wurden die Werte der Enzymaktivitäten in U/g Frischgewicht (Tab.4-7) und die Werte des DNA-Gehalts in mg DNA/g Frischgewicht (Tab.8) verwendet. In die Tab.10 wurden die Verlängerungsstrecke sowie die Verlängerungszeit mit eingetragen.

Die Tab.10 zeigt, daß die Konzentrationen der Enzyme Enolase, Triosephosphat-Isomerase und der Creatin-Kinase im Muskelgewebe der gestreckten Seite bei den untersuchten Katzen deutlich vermindert sind. Bis zur Katze Nr.5, die 34 Tage verlängert wurde und bei der die maximale Extensionsstrecke von 2 cm erreicht wurde, ist ein kontinuierlicher Abfall der Enzymkonzentrationen zu erkennen. Bei Tier Nr. 6 steigen die Aktivitäten dieser drei Enzyme wieder an. Doch selbst bei der Katze Nr.7, bei der die Dehnung 70 Tage aufrechterhalten wurde und dabei nur eine Verlängerungsstrecke von 1,5 cm erreicht wurde, ist noch ein klarer Aktivitätsabfall im Muskelgewebe der gestreckten Extremität erkennbar. Die Enzymkonzentration der Lactat-Dehydrogenase ist bei Tier Nr.3 leicht, bei Tier Nr.4 stark erhöht. Wie die Tab.10 zeigt, fällt bei Tier Nr.5 die Enzymkonzentration der Lactat-Dehydrogenase um 58 %. Bei Tier Nr.6 verringert sich der Abfall der Aktivität wieder. Beim Tier Nr.7 ist die Enzymkonzentration der Lactat-Dehydrogenase im unbehandelten und gestreckten

Hinterbein nahezu gleich.

Außerdem läßt die Tab.10 einen Vergleich der prozentualen Abweichungen der Enzymaktivitäten der unbehandelten und gestreckten Extremität mit den prozentualen Abweichungen des DNA-Gehalts, ebenfalls zwischen unbehandelter und gestreckter Extremität, zu. Aus der Tab.10 ist zu erkennen, daß sich der DNA-Gehalt und die Enzymaktivitäten umgekehrt proportional verhalten. Lediglich die Aktivität der Lactat-Dehydrogenase steigt gleichzeitig mit dem DNA-Gehalt bei den Tieren Nr.3 und Nr.4 an. Bei der Katze Nr.5 ist die Enzymaktivität der vier untersuchten Enzyme des operierten Beines am geringsten, die Zunahme des DNA-Gehalts am größten. Bei den Tieren Nr.6 und Nr.7 fällt der DNA-Gehalt der gestreckten Seite wieder, die Enzymaktivitäten steigen entsprechend an.

Katze	Verläng.- strecke (cm)	Verläng.- zeit (Tage)	Prozentuale Abweichung zwischen un- behandelter und gestreckter Extre- mität				
			Enzymaktivität				DNA- Gehalt
			EN	TIM	LDH	CK	
Nr.3	0,5	8	- 11,9	- 7,2	+ 16	-11,7	+ 9,1
Nr.4	1,2	17	- 30,6	-38,4	+ 51,9	-27,5	+ 36,6
Nr.5	2,0	34	- 64,2	-54,3	- 57,8	-31,3	+ 124,0
Nr.6	2,0	44	- 35,4	-28,4	- 21,9	-18,8	+ 97,7
Nr.7	1,5	70	- 29,5	-27,5	- 0,3	-23,7	+ 6,6

Tab.10:

VERGLEICH DER PROZENTUALEN ABWEICHUNGEN DER ENZYMAKTIVITÄTEN VON ENOLASE, TRIOSEPHOSPHAT-ISOMERASE, LACTAT-DEHYDROGENASE UND CREATIN-KINASE SOEI DES DNA-GEHALTES IM M. SEMITENDINOSUS DER KATZE.

4. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, wie sich die diaphysäre Verlängerungsosteotomie auf die Enzymaktivitäten im Musculus semitendinosus bei Katzen auswirkt. Insbesondere ging es dabei um die Frage, ob und gegebenenfalls in welchem zeitlichen Verlauf die Dehnung der Muskulatur zu einer Veränderung des Gehaltes an makromolekularen Zellbestandteilen führt. Als Parameter der makromolekularen Zellbestandteile wurden der DNA-Gehalt bestimmt und die Aktivitäten der glykolytischen Enzyme Enolase, Triosephosphat-Isomerase, Lactat-Dehydrogenase, sowie die der Creatin-Kinase als muskelspezifisches Enzym unter $V_{\max}$ -Bedingungen gemessen, was ein relatives Maß für die im Muskel vorliegenden Enzymmengen darstellt. Um Aussagen über die Veränderungen der Enzymmengen machen zu können wurden jeweils die gemessenen Aktivitäten zwischen gestreckter und unbehandelter Extremität verglichen. Die Brauchbarkeit des Vergleichs zwischen gestreckter und unbehandelter Extremität zur Beurteilung einer behandlungsbedingten Veränderung wurde dadurch belegt, daß in den beiden Kontrolltieren im Musculus semitendinosus der linken und rechten hinteren Extremität für die einzelnen untersuchten Enzyme jeweils gleiche Aktivitätsspiegel gemessen

wurden (Tab.2).

In allen bisher untersuchten Organen wurde Enolase nachgewiesen, wenn auch mit Aktivitätsdifferenzen von zwei Größenordnungen. Selbst in anatomisch und funktionell so ähnlichen Geweben wie der roten und der weißen quergestreiften Muskulatur ist der Unterschied beträchtlich (9). Bei gleicher Aktivität in der linken und rechten Extremität der Kontrolltiere kann der beobachtete Abfall der Enzymaktivität der Enolase nach Verlängerungsosteotomie, der bei allen untersuchten Tieren feststellbar ist, direkt auf die Distraction zurückgeführt werden. Das Ausmaß der Verminderung der Enzymkonzentration im Muskelgewebe ist offensichtlich von der Distaktionsdauer abhängig und erreicht nach 34 Tagen bei allen untersuchten Enzymen ein Maximum. Nach längeren Distaktionszeiten scheinen die Enzyme des gedehnten Muskels vermehrt synthetisiert zu werden.

Die Triosephosphat-Isomerase, ein Protein mit einem Molekulargewicht von 43 000, ist eines der aktivsten Enzyme der Glykolyse (5). Die gemessenen Enzymaktivitäten der Triosephosphat-Isomerase auf der gestreckten Seite liegen alle unter den Aktivitätsspiegeln der unbehandelten Extremitäten (Tab.5). Der Aktivitätsabfall entspricht in der Größenordnung dem der Enolase.

Wegen ihrer großen Bedeutung für die anaerobe Glykolyse ist die Lactat-Dehydrogenase eines der verbreitetsten Enzyme des tierischen Organismus (10). Die Lactat-Dehydrogenase nimmt bei den vier untersuchten Enzymen eine Sonderstellung ein. Bei ihr zeigt sich erst eine Zunahme der Aktivität bei den Katzen Nr.3 und Nr.4, bei Nr.5 und Nr.6 eine starke Abnahme der Aktivität auf der gestreckten Seite (Tab.6). Bei der Katze Nr.7 ist fast kein Unterschied mehr zwischen unbehandelter und gestreckter Extermität. Jede Änderung der Enzymkonzentration bedeutet eine Anpassung an Veränderungen der Stoffzufuhr oder der Belastung. Bei bestimmten Muskeln, zu denen auch der Musculus semitendinosus gehört, tritt nach BALDWIN (3) als Antwort auf ein Übungsprogramm ein kleiner aber gleichmäßiger Abfall in den Aktivitätsspiegeln einiger Enzyme, unter anderem der der Lactat-Dehydrogenase, ein. Durch die eingenommene Schonhaltung in den ersten Tagen nach dem Einsetzen des Distraktionsgerätes könnte somit ein zum Training gegensinniger Effekt einsetzen, der zum Anstieg der Aktivität der Lactat-Dehydrogenase im gedehnten Muskel in den ersten 2-3 Wochen führt.

Die Creatin-Kinase katalysiert die reversible Übertragung der Phosphatgruppe zwischen ATP und Creatin. Das Creatinphosphat stellt also einen zusätzlichen

Energiespeicher im Muskel dar (12). Bei der vorliegenden Untersuchung fiel der Aktivitätsspiegel der Creatin-Kinase auf der operierten Seite in ähnlicher Weise wie bei den anderen untersuchten Enzymen ab (Tab.7).

Zusammenfassend ist festzustellen, daß infolge der Dehnung des Muskelgewebes durch die Verlängerungsosteotomie ein sofortiger Abfall der Konzentrationen der Enzyme Enolase, Triosephosphat-Isomerase und Creatin-Kinase stattfindet. Es sieht so aus, als würden sich, mit anhaltender Distraktionsdauer, die Aktivitäten dieser drei Enzyme auf der gestreckten Seite bis zum 34sten Tag ständig verringern, dann aber wieder langsam ansteigen. Dies ist jedoch wegen des Versuchsaufbaus nicht zu verifizieren. Bei der Interpretation der Ergebnisse der Enzymaktivitätsmessungen muß einschränkend berücksichtigt werden, daß die zur Untersuchung verwendeten Muskelproben nicht von einem Tier in einem bestimmten zeitlichen Ablauf entnommen wurden, sondern von verschiedenen Individuen stammen. Somit ist kein genauer Verlauf der Änderungen der Enzymbestände darstellbar. Bei der Katze Nr.5 ist der Unterschied der gemessenen Enzymkonzentrationen zwischen unbehandelter und gestreckter Extremität am größten. Ob jedoch bei den Katzen Nr.3 und Nr.4 ein ebensolcher Abfall erreicht worden

wäre, bzw. bei den Katzen Nr.6 und Nr.7 erreicht wurde, sich dann aber wieder verringert hat, ist demnach nicht feststellbar.

Die durch die Messungen erhaltenen Ergebnisse zeigen, daß bei allen untersuchten Katzen, bei denen eine Verlängerungsosteotomie durchgeführt wurde, ein Abfall der Enzymaktivitäten stattfindet. Da die Bestimmung der Enzymaktivitäten unter $V_{\max}$ -Bedingungen ablief, bedeutet dieser Aktivitätsabfall einen Abfall der Enzymkonzentrationen, d.h. eine Verringerung der Enzymmenge pro Gramm Frischgewicht. Die Enzymsynthese hält mit dem Enzymabbau offensichtlich nicht Schritt.

In der vorliegenden Arbeit sollte weiter untersucht werden, ob durch die Verlängerungsosteotomie eine Veränderung der Aktivitätsmuster, gebildet aus den vier Enzymen Enolase, Triosephosphat-Isomerase, Lactat-Dehydrogenase und Creatin-Kinase, auftritt. Dies wäre ein Hinweis auf quantitative Unterschiede in den Veränderungen der einzelnen Enzyme bei Verlängerungsosteotomie. Die Aktivitätsmuster der beiden unbehandelten Kontrolltiere wurden als proportionskonstant gefunden, d.h. das Aktivitätsmuster der vier untersuchten Enzyme ist im Musculus semitendinosus beider Extremitäten gleich (Abb.2). Ein geringer Unterschied zeigt sich nur in ihrer Aktivitätshöhe, was aber individuell

bedingt sein kann. Durch die Verlängerungsosteotomie kommt es jeweils auf der gestreckten Seite zum Absinken der Aktivitätsspiegel der vier untersuchten Enzyme und auch zu einer qualitativen Veränderung der Aktivitätsmuster. Geringe individuelle Unterschiede zeigen sich auch in den Aktivitätsmustern der unbehandelten Seite. Der stärkste Unterschied hinsichtlich der Aktivitätsmuster und des Aktivitätsspiegels, sowohl der unbehandelten als auch der gestreckten Extremität, wurde bei der Katze Nr.5 gefunden. Dies könnte z.B. auf einen höheren Trainingszustand dieser Katze zurückgeführt werden (3). Der Anpassungsvorgang des Muskels an die Dehnung scheint selbst 70 Tage nach Beginn der Distraction noch nicht abgeschlossen zu sein. Dies wird durch die bei der Katze Nr.7 erhaltenen Ergebnisse belegt (Abb.6), bei der sowohl noch immer unterschiedliche prozentuale Abweichungen zwischen unbehandelter und gestreckter Muskulatur, als auch im Vergleich zu den Kontrolltieren noch leicht veränderte und gesenkte Aktivitätsmuster gemessen wurden.

Durch Bestimmung des DNA-Gehaltes sollte weiterhin Information erhalten werden, ob unter diesen Versuchsbedingungen eine Vermehrung von Kernen im Faserplasmodium stattfindet. Bei den beiden Kontrolltieren traten keine signifikanten Unterschiede zwischen der linken und der rechten Extremität auf (Tab.3).

Bei sämtlichen distrahierten Katzen ist eine Zunahme des DNA-Gehaltes feststellbar, das Ausmaß der Zunahme scheint von der Dauer der Distraction abzuhängen (Tab.8). Das Maximum der DNA-Synthese wird nach 34 Tagen Distraction bei Katze Nr.5 mit 124% DNA-Zunahme erreicht, um im weiteren Verlauf wieder abzufallen.

Durch Vergleich der gemessenen Enzym- und DNA-Konzentrationen zwischen unbehandelter und gestreckter Extremität sollten Rückschlüsse auf biosynthetische Vorgänge bei der Distraction durch Verlängerungsosteotomie gezogen werden. Dieser Bezug der gemessenen Enzymaktivität auf den DNA-Gehalt gibt Auskunft über die jeweilige Enzymkapazität des mehrkernigen Faserplasmodiums und erlaubt gute Vergleichsmöglichkeiten, wenn der DNA-Gehalt und damit die Kernzahl unverändert bleiben. Dies ist aber nur bei den unbehandelten Tieren der Fall. Bei der gestreckten Extremität dagegen ändert sich der DNA-Gehalt erheblich (Tab.8), so daß diese Bezugsgröße für Aussagen über die Enzymkapazität nicht herangezogen werden kann.

Vergleicht man aber die prozentualen Abweichungen der Enzymkonzentrationen und die des DNA-Gehaltes zwischen unbehandelter und gestreckter Extremität so zeigt sich, daß sich der DNA-Gehalt und die unter $V_{\max}$ -Bedingungen gemessenen Enzymaktivitäten umgekehrt proportional verhalten. Lediglich die Aktivität der

Lactat-Dehydrogenase steigt bei den Katzen Nr.3 und Nr.4 gleichzeitig mit dem DNA-Gehalt an. Je geringer die Aktivität der Enzyme Enolase, Triosephosphat-Isomerase und der Creatin-Kinase gefunden wurde, desto höher war der DNA-Gehalt. Die Ergebnisse weisen daraufhin, daß auf den Dehnungsreiz hin zunächst die DNA-Synthese im Faserplasmodium angeregt wird, während bei den Enzymproteinen die Abbauraten die Syntheseraten überwiegen.

Die vielkernige Struktur, die das Faserplasmodium aufweist, ist eine komplexe Einheit, sowohl in der Funktion (Koordination), als auch im Stoffwechsel. Die zahlreichen feingeweblichen Reaktionen, hervorgerufen durch Veränderungen der äußeren Bedingungen bzw. der Stoffwechsellage, können durch Veränderungen in der Muskelfaser selbst nachgewiesen werden (14). Immobilisation führt immer unmittelbar zu einer überschießenden katabolen Aktivität, welche die anabole bei weitem übertrifft. Dies führt zur Muskeldystrophie, die mit der Degeneration von Muskelfasern, wobei der Embryonalstatus erreicht werden kann, mit einer relativen Kernvermehrung und einer Verringerung der Kontraktionskraft einhergeht (1). Die Muskelfasern reagieren auf Beschädigungen äußerst schnell und wirkungsvoll. Die Umstände, durch die die Kernaktivität angeregt wird, sind unbekannt. Es kommt zu einer überschießenden Proliferation der Kerne, durch mitotische Teilung, Anschwellen und Verschmelzung(1).

Die Kerne liegen perlschnurartig aufgereiht im Sarkolemm. Durch die erhebliche Weichteildehnung, d.h. Dehnung der Muskelfasern, wird, wie die Messungen des DNA-Gehalts zeigen, ebenfalls eine Proliferation der Kerne ausgelöst, während beim Eiweißstoffwechsel offensichtlich die katabole Stoffwechsellaage, gemessen am Abfall der Enzymaktivitäten, für die Dauer der Distraction vorherrscht.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit sollten die Auswirkungen der diaphysären Verlängerungsosteotomie auf die Enzymaktivitäten, gemessen unter $V_{\max}$ -Bedingungen, und den DNA-Gehalt im Musculus semitendinosus der Katze untersucht werden. Folgende Aussagen können gemacht werden:

1. Bei den glykolytischen Enzymen Enolase, Triosephosphat-Isomerase und dem muskelspezifischen Enzym Creatin-Kinase ist ein Abfall der Enzymkonzentration, d.h. der Enzymmenge pro Gramm Frischgewicht auf der gestreckten Seite bei allen untersuchten Katzen feststellbar. Die katabole Reaktion des Faserplasmodiums überwiegt bei diesen Enzymen offensichtlich die anabole in erheblichem Maße.
2. Die Aktivität der Lactat-Dehydrogenase dagegen steigt in den ersten Wochen im gestreckten Muskel an und fällt erst im weiteren Verlauf ab, um nach längerer Distraction hinsichtlich Auf- und Abbau einen Ausgleich zu erreichen. Der Anstieg in den ersten 2-3 Wochen ist möglicherweise auf eine Schonhaltung nach dem Einsetzen des Distraktionsgerätes zurückzuführen.
3. Die Enzymaktivitätsmuster der gestreckten Seiten, gebildet aus den vier Enzymen Enolase, Triose-

phosphat-Isomerase, Lactat-Dehydrogenase und Creatin-Kinase verändern im Lauf der Distraction ihre Proportionen zueinander und es kommt generell zu einem Absinken der Aktivitätsspiegel. Auch dies ist Ausdruck der überwiegend katabolen Situation im Eiweißstoffwechsel.

4. Der DNA-Gehalt im Musculus semitendinosus steigt bei allen untersuchten Katzen jeweils auf der gestreckten Seite bedingt durch die Distraction der Muskelfasern erheblich an. Dies weist auf eine überschießende Proliferation der Kerne, ausgelöst durch den Dehnungsreiz, hin.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) ADAMS, Raymond D. (1975). Diseases of muscle.
Harper&Row, New York, San Francisco, London
- (2) ANDERSON, W.V. (1952). Leg lengthening.
J. Bone Jt. Surgery, 34 B, 150
- (3) BALDWIN, K.M., et al (1976). Glykolytic enzymes in
different types of sceletal muscle: adaption
to exercise. Pflügers Arch. 364, 229-234
- (4) BUDECKE, E. (1974). Grundriss der Biochemie.
Walter De Gruyter, Berlin, New York
- (5) BURTON, P.M., WALEY, S.G. (1966). The active centre
of Triose Phosphate Isomerase. Biochem.J.,
100, 702
- (6) DISCHE, Z. (1955). The nucleic acids.
Chargaff, Davidson, Ed., Acad. Press, Vol.I
- (7) EXNER, G. (1977). Beinlängendifferenzen.
DAB, 36, 2171-2174
- (8) HOPPE-SEYLER/THIERFELDER (1964). Handbuch der physiol.
und pathochem. Analyse. Springer, Berlin,
Heidelberg, New York, Bd. VIa
- (9) HOPPE-SEYLER/THIERFELDER (1966). Handbuch der physiol.
und pathochem. Analyse. Springer, Berlin,
Heidelberg, New York, Bd. VIc
- (10) MAREY, E. (1887). Recherches expèrimentales sur la
morphologie des muscles. C.r. hebd. Sèanc.
Acad. Sci., Paris, 105, 446-451
- (11) PETTE, D., BÜCHER, Th. (1963). Proportionskonstante
Gruppen in Beziehung zur Differenzierung der
Enzymaktivitätsmuster von Skelettmuskeln des
Kaninchens. Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.
331, 229-234
- (12) RAPOPORT, S.M. (1975). Medizinische Biochemie.
VEB Verlag, 377
- (13) SCHNEIDER, W.G. (1945). Phosphorus compounds in
animal tissues. J. Biol. chem., 161, 293

- (14) STAUDTE, H.W., PESCH, H.J., STRAUSS, H.J. (im Druck).
Der Musculus vastus lateralis der Katze bei
der experimentellen Femurverlängerung. Mor-
phometrische Untersuchung zur strukturellen
Anpassung. Wird veröffentlicht in Z. Orthop.
Trauma
- (15) STRAUSS, H.J., PESCH, H.J. (1976). Tierexperimentelle
und histomorphologische Untersuchungen zur
Knochenregeneration bei der Gliedmaßenver-
längerung. Verh. Dtsch. Ges. Path., 60, 438
- (16) STRAUSS, H.J. (1977). Experimentelle Untersuchungen
zur Knochenneubildung bei der Gliedmaßen-
verlängerung. Z. Orth., 115, 594
- (17) VOGELL, W., PETTE, D., et al (1959). Über struktu-
relle und enzymatische Muster in Muskeln von
Locusta migratoria. Biochem. Z., 332, 81
- (18) WAGNER, H. (1971). Operative Beinverlängerung.
Der Chirurg, 42.Jg., Heft 6, 260-266
- (19) WAGNER, H., PESCH, H.J. (1974). Histomorphologische
Befunde der Knochenregeneration unter Dis-
traktion bei der diaphysären Verlängerungs-
osteotomie. Verh. Dtsch. Ges. Path., 58,
305-308
- (20) WILLIAMS, P.E. and GOLDSPIK, G. (1971). Longitu-
dinal growth of striated muscle fibers.
J. Cell. Sci., 9, 751-767

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für Physiologische Chemie, Lehrstuhl II, unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. K. Brand in der Zeit vom Sommersemester 1977 bis zum Wintersemester 1979 angefertigt.

Ich nehme gerne die Gelegenheit wahr, Herrn Prof. Dr. K. Brand für die ständige Betreuung der Arbeit in dieser Zeit recht herzlich zu danken. Er hat den Fortgang der Arbeit in zahlreichen kritischen Diskussionen während der experimentellen Phase wie auch bei der Niederschrift nachdrücklich gefördert.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. H.J. Pesch, Institut für Pathologie, der das Thema der Arbeit angeregt hat, sowie Herrn Oberarzt Dr. H.J. Strauß, Orthopädische Klinik Wichernhaus, der durch die Operationen der Katzen die Arbeit erst ermöglichte.

Frau Ch.Ostermann danke ich dafür, daß sie mir im Labor mit Rat und Tat zur Seite stand.

LEBENS LAUF

15.08.1950	geboren in Weiden
	Vater: Johann Dambeck
	Mutter: Anna, geb. Kellner
Sept. 1956	Volksschule Windischeschenbach
Sept. 1961	Kepler-Gymnasium
April 1971	Abitur
Sept. 1971	Beginn des Studiums der Germanistik, Geographie und Sozialkunde in Erlangen
Okt. 1973	Beginn des Studiums der Humanmedizin in Erlangen
März 1976	Ärztlich Vorprüfung
Mai 1976	Heirat mit Graciella Schopper aus Weiden
März 1977	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
März 1979	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
März 1980	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Mai 1980	Dissertation über ein enzymologisches Thema bei Herrn Prof. Dr. K. Brand im Institut für Physiologische Chemie, Lehrstuhl II, der Universität Erlangen Nürnberg

aus dem Leben

